

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**EVALUACIÓN Y PRODUCCIÓN MASIVA DE HONGOS
ENTOMOPATÓGENOS PARA EL MANEJO DEL PSILIDO DE LA
PAPA (*Bactericera cockerelli* Sulc) EN CULTIVOS DE TOMATE
(*Solanum lycopersicum* L.) Y CHILE (*Capsicum annuum* L.)
EN INVERNADERO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

P R E S E N T A

FABIOLA VILLEGAS RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**EVALUACIÓN Y PRODUCCIÓN MASIVA DE HONGOS
ENTOMOPATÓGENOS PARA EL MANEJO DEL PSILIDO DE LA
PAPA (*Bactericera cockerelli* Sulc) EN CULTIVOS DE TOMATE
(*Solanum lycopersicum* L.) Y CHILE (*Capsicum annuum* L.,)
EN INVERNADERO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

PRESENTA

FABIOLA VILLEGAS RODRÍGUEZ

General Escobedo, N.L.

Enero 2015

**EVALUACIÓN Y PRODUCCIÓN MASIVA DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA
EL MANEJO DEL PSLIDO DE LA PAPA (*Bactericera cockerelli* Sulc) EN CULTIVOS
DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) Y CHILE (*Capsicum annuum* L.) EN
INVERNADERO**

Aprobación de Tesis

Comité Particular

Dr. Jorge Ariel Torres Castillo

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Marín Sánchez

CO-DIRECTOR

Dr. Omar G. Alvarado Gómez

ASESOR

Dr. Guillermo Cristian G. Martínez Ávila

ASESOR

Dr. Victor E. Aguirre Arzola

ASESOR

Dr. Pablo Delgado Sánchez

ASESOR

Dr. Ernesto Javier Sánchez Alejo

SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS

DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**EVALUACIÓN Y PRODUCCIÓN MASIVA DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS PARA
EL MANEJO DEL PSÍLIDO DE LA PAPA (*Bactericera cockerelli* Sulc) EN CULTIVOS
DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) Y CHILE (*Capsicum annuum* L.) EN
INVERNADERO**

Aprobación de Examen

Comité de Examen

Dr. Omar G. Alvarado Gómez

PRESIDENTE

Dr. Guillermo Cristian G. Martínez Ávila

SECRETARIO

Dr. Victor E. Aguirre Arzola

VOCAL

Dr. Jorge Ariel Torres Castillo

VOCAL

Dr. Pablo Delgado Sánchez

VOCAL

Dr. José Marín Sánchez

VOCAL

Dr. Ernesto Javier Sánchez Alejo

SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS

DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

DEDICATORIA

A mi esposo, mi hijo y mi mamá por ser el motivo de mi día a día.

AGRADECIMIENTOS

A todos los miembros del Comité Particular:

Dr. Cristian Martínez y Dr. Víctor Aguirre, por las sugerencias que enriquecieron este trabajo.

Al Dr. Omar Alvarado por todo el apoyo brindado para mejorar cada uno de los escritos realizados así como la ayuda proporcionada.

Dr. Pablo Delgado por las facilidades brindadas para realizar los trabajos en el laboratorio a su cargo, así como las sugerencias dadas para la realización de los diversos escritos.

Finalmente a los Doctores Jorge Ariel y José Marín, quienes apoyaron al proyecto en todo momento, siempre dieron las mejores sugerencias para la realización de las actividades de laboratorio e invernadero respectivamente y mostraron la mejor disposición para alcanzar las metas, así como ayudar a que el convenio se llevara a cabo de la mejor manera, siempre buscando lo mejor para su asesorada.

A los miembros de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León que participaron en la realización del convenio establecido con la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

A los profesores de la FA-UANL que me impartieron clase durante el periodo que duro mi doctorado.

A los profesores de la FA-UASLP que participaron con las clases que tomé durante mi estancia en San Luis Potosí.

A CONACyT por la beca brindada para la realización de mi doctorado.

A amigos y compañeros de laboratorio por la ayuda brindada.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
DEDICATORIA.....	V
AGRADECIMIENTOS.....	VI
INDICE DE CUADROS.....	IX
INDICE DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN.....	XI
SUMMARY.....	XII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivo.....	2
1.2 Objetivos Específicos.....	2
1.3 Hipótesis.....	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1 Producción en Invernadero.....	4
2.2 Importancia Económica de las Solanáceas.....	4
2.3 Importancia Económica de <i>Bactericera cockerelli</i>	5
2.4 Manejo del Psílido de la Papa.....	6
2.5 Hongos Entomopatógenos.....	6
2.6 Producción de Hongos Entomopatógenos.....	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
3.1 Localización.....	9
3.2 Establecimiento de una Colonia de <i>B. cockerelli</i>	9
3.3 Hongos Entomopatógenos.....	10
3.4 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Condiciones Nutrimentales.....	10
3.5 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Temperaturas.....	11
3.6 Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos.....	12
3.7 Concentración de Conidias y Prueba de Viabilidad.....	12

	Página
3.8 Adhesión de Conidias de Hongos Entomopatógenos sobre Ninfas de <i>B. cockerelli</i>	13
3.9 Ensayos en Invernadero en Chile.....	13
3.10 Ensayos en Invernadero en Tomate.....	14
3.11 Muestreo de Insectos.....	14
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
4.1 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Condiciones Nutrimientales.....	16
4.2 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Temperaturas	17
4.3 Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos en Sustratos Alternativos.....	20
4.4 Ensayos de Adhesión de Conidias de Hongos Entomopatógenos sobre Ninfas de <i>B. cockerelli</i>	21
4.5 Ensayos en Invernadero en Cultivo de Chile.....	22
4.5.1 Viabilidad.....	22
4.5.2 Micosis.....	22
4.5.3 Mortalidad.....	23
4.6 Ensayos en Invernadero en Cultivo de Tomate.....	24
4.6.1 Viabilidad.....	24
4.6.2 Micosis.....	24
4.6.3 Mortalidad.....	24
5. CONCLUSIONES.....	28
6. BIBLIOGRADIA CONSULTADA.....	29
7. APÉNDICE.....	33

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Efecto de los medios de cultivo sobre el diámetro de crecimiento micelial (cm) de hongos entomopatógenos.....	16
2	Efecto de los medios de cultivo sobre el porcentaje de viabilidad de las conidias de hongos entomopatógenos.....	17
3	Efecto de los medios de cultivo sobre la producción de esporas de hongos entomopatógenos.....	17
4	Efecto de la temperatura sobre el crecimiento radial, esporulación y germinación de cuatro cepas de hongos entomopatógenos.....	19
5	Producción de esporas de cepas de hongos entomopatógenos en diferentes sustratos vegetales.....	21
6	Mortalidad de ninfas de <i>B. cockerelli</i> debido a la aplicación de hongos entomopatógenos.....	23

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mortalidad de <i>B. cockerelli</i> debido a las aplicaciones de hongos entomopatógenos en plantas de tomate.....	25
2	Crecimiento y esporulación de cepas de hongos entomopatógenos bajo diferentes temperaturas.....	33
3	Adhesión de conidias a ninfas de <i>B. cockerelli</i>	33
4	Crecimiento de hongos entomopatógenos sobre diferentes sustratos.	34
5	Aplicación de hongos entomopatógenos sobre diferentes cultivos bajo condiciones de invernadero.....	34
6	Ninfas y adultos de <i>B. cockerelli</i> mostrando signos de infección por hongos entomopatógenos en cultivo de chile.....	34

7	Hojas muestreadas durante la aplicación de hongos entomopatógenos en cultivo de tomate.	35
8	Ninfas y adultos de <i>B. cockerelli</i> mostrando signos de infección por hongos entomopatógenos en cultivo de tomate bajo condiciones de laboratorio.....	35

RESUMEN

En la búsqueda de nuevas estrategias para el manejo de la Paratrioza, *Bactericera cockerelli*, se ha incluido recientemente el uso de hongos entomopatógenos, principalmente debido a su modo de acción. En este trabajo se evaluaron cuatro cepas de hongos entomopatógenos, dos pertenecientes a *Beauveria bassiana* (BB09 y BB42) y dos a *Metarhizium anisopliae* (MA25 y MA28). Para las cuatro cepas se valoraron cuatro medios de cultivo (Agar Agua, Papa Dextrosa Agar, Papa Dextrosa Agar + 5% Levadura y Papa Dextrosa Agar + 5% Sacarosa) y tres temperaturas diferentes (20, 25 y 30°C); de igual manera, las cuatro cepas se sujetaron a prueba en tres diferentes medios de producción masiva (arroz, bagazo de caña y bagazo de uva). Para estas tres pruebas se evaluó crecimiento de micelio, viabilidad y esporulación. De manera conjunta se observó la adhesión de conidias de cada una de las cepas a ninfas de *B. cockerelli* bajo condiciones de laboratorio. Para concluir las evaluaciones, se realizaron dos experimentos en invernaderos para valorar las mortalidades generadas en dos cultivos diferentes (chile y tomate) a dos diferentes concentraciones (1×10^7 conidias por mL y 1×10^8 conidias por mL). De las evaluaciones se concluyó que para éstas cepas el medio de cultivo más adecuado es aquél enriquecido con levadura y que dichas cepas se desarrollan mejor a 25°C, a excepción de las cepas de *B. bassiana*, las cuales generan mayor cantidad de esporas a 30°C; en cuanto a la reproducción masiva, la búsqueda de sustratos alternativos debe continuar, ya que el bagazo de uva y el de caña no fueron capaces de dar las condiciones adecuadas para generar la misma cantidad de esporas que en el medio usual, el arroz. Finalmente, utilizar hongos entomopatógenos para el manejo de *B. cockerelli* bajo condiciones de invernadero promete ser una estrategia confiable, ya que dependiendo de la concentración y la cepa utilizada, pueden lograrse niveles de control que van desde un 50 a un 82%.

SUMMARY

In the search for new strategies for managing the Paratrioza, *Bactericera cockerelli* has recently included the use of entomopathogenic fungi, mainly due to its mode of action. In this study four strains of entomopathogenic fungi were evaluated, two strains of *Beauveria bassiana* (BB09 and BB42) and two of *Metarhizium anisopliae* (MA25 and MA28). For all the strains four culture media (Water Agar, Potato Dextrose Agar, Potato Dextrose Agar + 5% Yeast and Potato Dextrose Agar + 5% Sucrose) and three different temperatures (20, 25 and 30 ° C) were evaluated; similarly, the four strains were subjected to testing in three different mass production substrata (rice, sugar cane bagasse and grape pomace). For these three tests mycelial growth, sporulation and viability were assessed. Besides, adhesion of conidia of each of the strains to *B. cockerelli* nymphs under laboratory conditions was observed. To conclude the evaluation, two experiments were conducted in greenhouses to assess mortalities generated in two different crops (pepper and tomato) at two different concentrations (1×10^7 conidia mL⁻¹ and 1×10^8 conidias mL⁻¹). From the evaluations was concluded that the most suitable culture medium for these strains is the one enriched with yeast and all the strains grow best at 25 ° C, except for the strains of *B. bassiana*, which generate a greater amount of spores at 30 ° C; in terms of the mass reproduction, the search for alternative substrates should continue as the bagasses were not able to provide appropriate conditions to generate the same amount of spores in the usual medium, rice. Finally, using entomopathogenic fungi for management of *B. cockerelli* under greenhouse conditions promises to be a reliable strategy, because depending on the concentration and the strain used, control levels ranging from 50 to 82% can be achieved.

1. INTRODUCCIÓN

El invernadero es un espacio cerrado por una estructura recubierta de materiales transparentes que proporciona a las plantas condiciones ambientales idóneas para su crecimiento y desarrollo que no disponen al aire libre; además, proporciona un control parcial del medio edafoclimático alterando sus condiciones (Reche, 2009). El objetivo del cultivo protegido es obtener producciones de alto valor añadido (hortalizas, frutas, flores ornamentales y plantas de vivero) como es el caso del jitomate (Jiménez, 2009).

En nuestro país el cultivo del jitomate es de gran importancia, para el 2010 la FAO, lo ubicó dentro de los diez principales productores del jitomate en el mundo; para el 2013 tuvo una producción de 2.69 millones de toneladas y un valor de la producción de 15, 045 millones de pesos (SIAP, SAGARPA, 2014). Para el cultivo del chile, la FAO ubica a México dentro de los primeros 15 productores con 2.29 millones de toneladas y un valor de la producción de 14, 620 millones de pesos (SIAP, SAGARPA, 2014). En el caso de San Luis Potosí, para el 2007 existían 233 unidades de producción con una superficie de 313 ha, en su mayoría dedicadas al cultivo de ésta hortaliza (INEGI, 2009).

Uno de los problemas de mayor importancia que se presentan en el desarrollo del cultivo de tomate bajo condiciones protegidas, es el ataque de algunas plagas, afectando significativamente la producción y la calidad de los frutos (Jiménez, 2009).

El psílido de la papa, *Bactericera cockerelli* (Sulc), es uno de los insectos de mayor importancia económica que afecta a las solanáceas, éste se presenta con mayor incidencia en zonas agrícolas de monocultivo de papa, jitomate, tomate de cáscara y chile, llegando a éstos desde cultivos de otras regiones y sus hospedantes silvestres. En las plantas hospederas ocasiona daños directos por la inyección de una toxina, la cual es transmitida únicamente por las ninfas, además de un daño indirecto importante causado por la transmisión de fitoplasmas (SAGARPA, 2009).

El daño potencial del psílido de la papa se incrementa debido a que se ha consignado como resistente a insecticidas (Cerna *et al.*, 2010) y transmisor de

enfermedades como la denominada “Amarillamiento” causada por *Candidatus Liberibacter psyllae*, que afecta a la papa y jitomate (Hansen *et al.*, 2008) y del permanente del tomate (Garzón *et al.*, 2009). Se ha relacionado también con la transmisión de la enfermedad denominada “Zebra chip”, la cual ha sido responsable de pérdidas de millones de dólares en la industria de la papa en zonas como el suroeste de los Estados Unidos, México, Centroamérica y Nueva Zelanda (Munyanza *et al.*, 2008; Liefting *et al.*, 2009 y EPPO, 2009).

El manejo del psílido de la papa se ha basado principalmente en la utilización de productos químicos; sin embargo, se han tratado de implementar nuevas estrategias para evitar generar casos de resistencia, la cual ya ha sido demostrada. Dentro de estas alternativas el control biológico de esta plaga, sustentado en la utilización de hongos entomopatógenos promete ser una alternativa viable. Para utilizar estos microorganismos es necesario contar con una cantidad considerable de conidias infectivas, las cuales se producen en diversos sustratos tales como granos de arroz y trigo entre otros; por ello la búsqueda de sustratos alternativos es causa de estudio.

1.1 Objetivo

Evaluar diferentes condiciones ambientales y medios de cultivo para la reproducción a nivel de laboratorio y masiva con la finalidad de generar esporas capaces de infectar y observar así, altos valores de mortalidad sobre *B. cockerelli* bajo condiciones de invernadero.

1.2 Objetivos específicos

- a) Evaluar el crecimiento de las cepas bajo diferentes condiciones nutrimentales
- b) Evaluar el crecimiento de las cepas bajo diferentes temperaturas
- c) Evaluar sustratos para la producción masiva de unidades infectivas de hongos entomopatógenos.
- d) Evaluar el potencial de uso de cuatro cepas de hongos entomopatógenos; dos cepas comerciales y dos cepas nativas del Estado de Guanajuato, bajo condiciones de invernadero en dos diferentes cultivos: jitomate y chile.

1.3 Hipótesis

Los hongos entomopatógenos pueden crecer sobre medios vegetales y generar una gran cantidad de conidias infectivas que teniendo las condiciones de humedad y temperatura adecuados, serán capaces de reducir la población del psílido de la papa al menos en un 50%.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Producción en Invernadero

El invernadero es un espacio cerrado por una estructura de madera, metal, concreto u otro material, recubierta de materiales transparentes como cristal, policarbonato o material plástico, entre otros, que proporciona a las plantas condiciones ambientales idóneas para su crecimiento y desarrollo que no disponen al aire libre (Jiménez, 2009). Además, es un sistema agrícola que proporciona control del medio edafoclimático alterando las condiciones del suelo, temperatura, radiación solar, viento, humedad y composición atmosférica. Mediante estas técnicas de protección se cultivan plantas modificando su entorno natural para prolongar el período de recolección, alterar los ciclos convencionales, aumentar los rendimientos, mejorar su calidad, estabilizar producciones y disponer de productos cuando la producción a campo abierto se encuentra limitada (Reche, 2009).

Los invernaderos de cubierta plástica llegan a ocuparen países como España el 99% de la superficie total sembrada, estimada en 53,843 ha en el año 2005, esta superficie duplicó la superficie ocupada por invernaderos en 1995 (Castilla, 1991; Jiménez, 2009). En México para el 2007 existían 18,000 unidades de producción, ocupando una superficie de poco más de 12,500 ha (INEGI, 2009). Gran parte de las cuales se dedican a obtener producciones de alto valor añadido; por ejemplo, hortalizas, frutas, flores ornamentales, plantas de vivero y muy frecuentemente tomate, *Solanum lycopersicum* (Jiménez, 2009).

2.2 Importancia Económica de las Solanáceas

Las solanáceas comprenden una de las familias más importantes de hortalizas para México. Por la producción de chile, nuestro país ocupó el noveno lugar, y se colocó dentro de los diez principales productores de jitomate en el mundo (FAO, 2009).

En México, el jitomate tuvo en el año del 2013 una producción de 2.27 millones de toneladas, con un valor de 14,887 millones de pesos; en el caso del chile, la producción fue de 2.3 millones de toneladas y la papa con 1.5 millones de toneladas (SIAP, 2014).

Sinaloa es el principal productor a nivel nacional, para los ciclos otoño – invierno 2007- 2008 se plantaron un poco más de 23,000 ha, incluyendo 2,509 ha bajo condiciones de invernadero y casa sombra (Jiménez, 2009). En el caso de San Luis Potosí, para el 2007 existían 233 unidades de producción con una superficie de 313 ha, en su mayoría dedicadas al cultivo de esta hortaliza (INEGI, 2009).

2.3 Importancia Económica de *Bactericera cockerelli*

El psílido de la papa, *Bactericera cockerelli* (Sulc), es uno de los insectos de mayor importancia económica que afecta a las solanáceas. Se presenta con mayor incidencia en zonas agrícolas de monocultivo de papa, jitomate, tomate de cáscara y chile, llegando a éstos desde cultivos de otras regiones y sus hospedantes silvestres. En algunos lugares el insecto desaparece durante el invierno, emigrando a grandes distancias en busca de alimento. Es una plaga que se alimenta de la savia de las plantas hospederas, ocasionando dos tipos de daños: Directo, provocado por la inyección de una toxina, la cual es transmitida únicamente por las ninfas y el daño indirecto, considerado más importante, ya que es ocasionado por la transmisión de fitoplasmas (SAGARPA, 2009). Además, el daño potencial se incrementa debido a que la especie se ha consignado como resistente a insecticidas (Cerna *et al.*, 2010) y transmisor de enfermedades como la denominada “Amarillamiento” causada por *Candidatus Liberibacter psyllaurens*, que afecta a papa y jitomate (Hansen *et al.*, 2008), y del permanente del tomate (Garzón *et al.*, 2009). Además, se le ha relacionado también con la transmisión de la enfermedad denominada “Zebra chip”, la cual ha sido responsable de pérdidas millonarias de dólares en la industria de la papa en zonas como el suroeste de los Estados Unidos de Norte América, México, Centroamérica y Nueva Zelanda (Munyanza *et al.*, 2008; Liefting *et al.*, 2009; EPPO, 2009).

2.4 Manejo del Psílido de la Papa

El manejo del psílido de la papa se basa en productos químicos que poseen ingredientes activos como Abamectina, Spiromesifen o Spinosad (UC IPM, 2010), cada uno con un modo de acción diferente (IRAC, 2005); sin embargo, los casos de resistencia a Abamectina, Cipermetrina, Endosulfan, Imidacloprid y Profenofos, han sido demostrados (Cerna *et al.*, 2010). Lo expuesto y la presión pública y gubernamental por reducir los residuos de productos químicos, exigen encontrar alternativas de manejo de esta plaga, por lo cual el manejo integrado es una necesidad ante este problema fitosanitario.

Dentro de las estrategias utilizadas en el manejo integrado de este insecto, se encuentran el monitoreo de adultos, utilizando trampas amarillas pegajosas, aplicaciones de Imidacloprid al inicio del cultivo, así como aplicaciones foliares de Spiromesifen (Goolsby *et al.*, 2007). Además, de acuerdo con lo descrito por Lacey *et al.* (2009), el control biológico de esta plaga, sustentado en la utilización de hongos entomopatógenos, promete ser una alternativa viable.

2.5 Hongos Entomopatógenos

Los hongos entomopatógenos han jugado un papel único en la historia del control de los insectos por microbios (Roberts y Yendol, 1973).

De los diferentes microorganismos empleados para manejo de plagas, los hongos tienen mecanismos de invasión únicos que les permiten atravesar de forma directa la cutícula o la pared del tracto digestivo de los insectos, lo que los hace excelentes agentes de control biológico, actuando como insecticidas de contacto (Charnley, 1992).

Una revisión sobre el modo de acción de los hongos entomopatógenos y el desarrollo de la enfermedad que producen es dada por Téllez *et al.* (2009). Divide el proceso en tres fases: 1) adhesión y germinación de la espora en la cutícula del

insecto, 2) penetración en el hemocele, y 3) desarrollo del hongo, que generalmente resulta en la muerte del insecto.

Una vez establecido el proceso de adhesión, continua la penetración la cual es posible gracias a la acción combinada de un mecanismo físico y uno químico, el primero consiste en la presión ejercida por una estructura fúngica denominada haustorio, mientras que el segundo consiste en la acción enzimática, principalmente de actividades hidrolíticas, llevadas a cabo por proteasas, lipasas y quitinasas, las cuales degradan el tejido en la zona de penetración, facilitando la entrada del hongo (Monzón, 2001).

Trabajos previos han demostrado la capacidad de estos organismos para ser utilizados dentro de planes de manejo integrado de plagas. Dentro de los más utilizados a nivel mundial se encuentran *Metarhizium anisopliae* (en 33.9 % de los casos), *Beauveria bassiana* (33.9%), *Isaria fumosorosea* (antes *Paecilomyces fumosoroseus*) (5.8%) y *Beauveria brongniartii* (4.1%) (De Faria y Wraight, 2001). En nuestro país, se ha observado que la inserción de *B. bassiana* dentro de los planes de manejo integrado de la broca del café han dado buenos resultados (Servicio Nacional de Sanidad, 2008), de igual manera, se han logrado porcentajes de efectividad de hasta 100% contra la langosta *Schistocerca piceifrons piceifrons* Walker utilizando *M. anisopliae* var. *acridum* en la Planicie Huasteca de nuestro país (Garza, 2005).

2.6 Producción de Hongos Entomopatógenos

La producción de hongos entomopatógenos se basa en la multiplicación masiva del hongo y sus estructuras reproductivas en un sustrato natural. Hasta la fecha se han evaluado diferentes tipos de sustratos vegetales, principalmente arroz, trigo, maíz, frijol y soya, pero lo más utilizados son arroz y trigo. Existen tres métodos de producción de hongos entomopatógenos: artesanal, semi-industrial e industrial (Monzón, 2001).

Al revisar dichos antecedentes se observa la importancia de generar diferentes estrategias de manejo para *B. cockerelli*, por lo que en este trabajo se evaluarán cuatro cepas de hongos entomopatógenos, desde las condiciones de temperatura y tipo de medio de cultivo más adecuadas para su reproducción en laboratorio, así como la búsqueda de sustratos alternativos para su producción masiva. Finalmente se evaluará su efecto sobre este insecto plaga en dos solanáceas de gran importancia para México, tomate y chile bajo condiciones de invernadero.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización

Los ensayos en invernadero y evaluación de las cepas a diferentes temperaturas se llevaron a cabo en los laboratorios y campos experimentales de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), ubicada en Km. 14.5 carretera San Luis Potosí - Matehuala, Ejido Palma de la Cruz, Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, México. Los ensayos de medio de cultivo y propagación masiva de los hongos entomopatógenos se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía ubicado en el Campus de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en el municipio General Escobedo, Nuevo León.

3.2 Establecimiento de una Colonia de *B. cockerelli*

Se colectaron aproximadamente 150 adultos de *B. cockerelli* en el cultivo de tomate, utilizando una red entomológica en el campo de producción agrícola de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la UASLP durante los meses Mayo y Junio del 2012. Los adultos se introdujeron en un frasco de plástico con boca ancha, de 20 cm de alto por 15 cm de diámetro, con la finalidad de trasladarlos al laboratorio de entomología para su cría y reproducción masiva.

En el laboratorio, los adultos provenientes de campo se colocaron en jaulas (50 cm x 50 cm x 75 cm) con plantas de chile, *Capsicum annuum* L., para su ovoposición, y se mantuvieron bajo condiciones ambientales controladas, con un fotoperiodo de 12:12 luz: oscuridad, temperatura media de 25 ± 1 °C y una humedad relativa de $60 \pm 10\%$.

Las macetas de chile se cambiaron cada 2 días y se colocaron en jaulas, separadas de los adultos de manera individual, con la finalidad de obtener ninfas del tercer estadio para los ensayos de adhesión; y adultos para los ensayos en invernadero. La determinación de la fecha en la que se alcanzara el estadio deseado, se realizó mediante la estimación de unidades calor (UC), para el tercer estadio se

requieren 227 UC, el cual se alcanzó aproximadamente a los 15 días, y para su ciclo completo de 335 UC, así como el tamaño de las ninfas (Abdullah, 2008; Medina y Covarrubias, 2008).

3.3 Hongos Entomopatógenos

Se evaluaron cuatro cepas de hongos entomopatógenos, dos cepas comerciales y dos cepas nativas del estado de Guanajuato, México, proporcionadas por el Laboratorio de Reproducción de Organismos Benéficos, dependiente del Comité Estatal de Sanidad Vegetal del Estado de Guanajuato (CESAVEG); las cuales en pruebas anteriores resultaron virulentas para el psílido de la papa: *Beauveria bassiana*, Bassianil (BB09), *Metarizhium anisopliae* Metabich (MA28), *Beauveria bassiana* aislada a partir de una chinche *Lygus* sp. en “El Copal”, Guanajuato (BB42) y *Metarizhium anisopliae* aislada de una gallina ciega en la localidad de Puruaga, Guanajuato (MA25).

Se aplicaron concentraciones desconocidas de cada cepa a ninfas de *B. cockerelli*, para su posterior re-aislamiento. A continuación, se sembraron sobre medio agar dextrosa sabouraud (ADS, Bioxon) y se incubaron a 25- 28 °C, dependiendo de la especie (Lacey y Kaya, 2000).

3.4 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Condiciones Nutrimientales

Con la finalidad de determinar si las cepas a evaluar respondían de manera positiva produciendo mayor cantidad de unidades infectivas de acuerdo con la condición nutrimental del medio, se evaluaron cuatro medios de cultivo: Papa Dextrosa Agar (PDA), PDA con 5% sacarosa, PDA con 5% de extracto de levadura y Agar - Agua. La inoculación se realizó al colocar discos de micelio de 5 mm de diámetro de hongos entomopatógenos activos. Las cajas inoculadas se incubaron a 25°C hasta que el crecimiento alcanzó las paredes de las cajas o bien hasta que se cumplieran 15 días. Se realizaron cuatro repeticiones para cada cepa en un diseño completamente al azar. La medición del diámetro de las colonias se realizó en forma de cruz. Para evaluar la esporulación, se procedió a lavar cada caja con una solución

de surfactante INEX-A al 0.2% para recuperar las unidades infectivas acompañado con un conteo de las mismas utilizando un hematocitómetro. Posteriormente se realizó un análisis de viabilidad tomando 50 μ L de la solución INEX-A al 0.2% más las conidias, y se sembraron sobre pequeños rectángulos de Agar Dextrosa Sabouraud (ADS), los cuales se cubrieron con un cubreobjetos con la finalidad de observar al microscopio la cantidad de conidias germinadas a las 17 h de acuerdo con la metodología reportada por Lacey *et al.* (2009).

Los resultados se analizaron estadísticamente realizando un ANAVA y comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de probabilidad de error $\alpha = 0.05$

3.5 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Temperaturas

Se crearon círculos de micelio activo de 5 mm de diámetro cortados con la ayuda de un sacabocados esterilizado al calor, una vez generados los discos se colocaron en el centro de cajas de petri que contenían medio ADS, las cuales se colocaron en cámaras climáticas a 20°, 25° y 30° C a 50% de humedad relativa para las tres temperaturas, hasta que el crecimiento alcanzó las paredes de las cajas. Se evaluó diariamente el diámetro de las colonias en forma de cruz.

Con la finalidad de evaluar el porcentaje de germinación de conidas se tomaron asadas de las conidias y se colocaron en 50 μ L de una solución de INEX-A al 0.2% para sembrarlas sobre pequeños rectángulos de agar ADS, los cuales se cubrieron con un cubreobjetos estéril con la finalidad de observar al microscopio la cantidad de conidias germinadas a las 17 h de acuerdo con la metodología seguida por Lacey *et al.* (2009). Posteriormente, para evaluar la cantidad de esporas generadas, se procedió a lavar cada caja con una solución de surfactante INEX-A al 0.2% para recuperar las unidades infectivas acompañado con un conteo de las mismas utilizando un hematocitómetro.

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar y los resultados se analizaron estadísticamente realizando un ANAVA y comparación de medias con la

prueba de Tukey a un nivel de probabilidad de error $\alpha = 0.05$ con el programa de análisis estadístico SAS.

3.6 Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos

La producción masiva de hongos entomopatógenos se probó en tres sustratos vegetales: bagazo de caña, bagazo de frutos de uva y granos de arroz. En el caso del bagazo de uva se molió y tamizó previamente para homogeneizar el tamaño de partícula del soporte; 200 g de cada sustrato se desinfectaron con solución de cloro al 0.5%, mezclada con tetraciclina y luego esterilizados en autoclave usando bolsas de polipapel cerradas con un grapa a 121°C, 15 psi por 30 minutos. La inoculación se realizó inyectando 20 mL de una solución de conidias de cada cepa a una concentración desconocida, posteriormente la bolsa se sacudió para distribuir la solución en el sustrato. Se prepararon cinco bolsas de cada sustrato, para cada aislamiento. Todas las bolsas fueron incubadas en una cámara climática ajustada a 25±1 °C, 80-85% de humedad relativa y un fotoperiodo de 12:12 luz:oscuridad. Después de 48 horas las bolsas se sacudieron para acelerar el crecimiento del hongo y asegurar un desarrollo homogéneo en el sustrato. Transcurridos al menos 10 días, se evaluó el rendimiento de conidias, colocando 5 g del sustrato colonizado en 500 mL de una solución de agua destilada con INEX-A al 2% para liberar las conidias. La cuantificación de conidias por bolsa se realizó utilizando un hematocitómetro. Los resultados se analizaron estadísticamente realizando un ANAVA y comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de probabilidad de error $\alpha = 0.05$.

3.7 Concentración de Conidias y Prueba de Viabilidad

Se colectaron conidias a partir de colonias en medio ADS, las cuales se utilizaron para obtener las primeras soluciones en agua destilada con surfactante INEX-A (COSMOCEL) al 0.2%, obteniendo una suspensión por agitación vigorosa con un agitador de placa magnética (Corning). El conteo de las conidias se realizó utilizando un hematocímetro y un microscopio (Carl Zeiss). Las suspensiones se ajustaron por dilución a las concentraciones deseadas (1×10^7 conidias mL⁻¹) para el

ensayo en chile y 1×10^8 conidias mL^{-1} para el ensayo en tomate) para cada especie de hongo entomopatógeno, y se corrigieron después de realizar las pruebas de viabilidad.

Se tomaron 50 μL de esta solución y se sembraron sobre pequeños rectángulos de agar, los cuales se cubrieron con un cubreobjetos con la finalidad de observar al microscopio la cantidad de conidias germinadas a las 17 h de acuerdo con la metodología sugerida por Lacey *et al.* (2009).

3.8 Adhesión de Conidias de Hongos Entomopatógenos sobre Ninfas de *B. cockerelli*

Se transparentaron ninfas de *B. cockerelli* sumergiéndolas en una solución de detergente iónico e hirviéndolas a 97°C durante 10 minutos, posteriormente se lavaron y colocaron en una solución de conidias de cada una de las cepas de hongos entomopatógenos durante 30 min. Una vez transcurrido el tiempo, se enjuagaron y observaron al microscopio. Para observar la germinación de las conidias, algunas ninfas se dejaron en la misma solución y se observaron a las 17 h (Lacey *et al.*, 2009).

3.9 Ensayos en Invernadero en Chile

Se estableció el cultivo de chile criollo (*Capsicum annuum* L.) bajo un sistema hidropónico, con un diseño en bloques completos al azar, con cuatro repeticiones y seis tratamientos: testigo absoluto, químico (en este caso Imidacloprid), MA28, MA25, BB09 y BB42. Cada unidad experimental constó de dos plantas. Se utilizaron bolsas con una mezcla de 50% Peatmoss Kekkila Garden®, 30% Perlita AGROLITA® y 20% Vermiculita AGROLITA® como sustrato. Las fertilizaciones se realizaron con soluciones nutritivas compuestas de 200 ppm de N, 76 ppm de P, 220 ppm de K, 170 ppm de Ca, 100 ppm de S, 3 ppm de Fe, 1 ppm de Mn, 0.50 ppm de B, 0.2 ppm de Cu, y 0.2 ppm de Zn (Fertilizantes G.L., S.A. de C.V., Hermosillo, Sonora, México) y se aplicaron de manera semanal ajustándolas a las necesidades del cultivo, de acuerdo con lo sugerido por Gil *et al.* (2003), con un riego diario de 300, 500, y 1000 ml de esta formulación en las etapas vegetativa, floración, y

fructificación, respectivamente. Dos meses antes de realizar las aplicaciones de hongos entomopatógenos se liberaron 50 adultos de *B. cockerelli* por bloque, dando un total de 200 insectos. Para realizar las aplicaciones se utilizó una mochila aspersora manual con capacidad de 20 L con una boquilla de cono y una presión de trabajo entre 6 y 8.7 psi; se aplicó una concentración de 1×10^7 conidias mL^{-1} con INEX-A al 0.2% para los hongos entomopatógenos, en el caso del Imidacloprid se aplicaron 0.2 L ha^{-1} , finalmente al testigo se le aplicó una solución de agua con INEX-A al 0.2%; se realizó una aplicación cada tercer día.

3.10 Ensayos en Invernadero en Tomate

Se estableció el cultivo de jitomate bola de crecimiento indeterminado cultivar Tamesis (Nunhems®) por medio de hidroponía, bajo un diseño en bloques completos al azar, con cuatro repeticiones y seis tratamientos: testigo absoluto, químico (en este caso Imidacloprid), MA28, MA25, BB09 y BB42. Se utilizaron bolsas con una mezcla de 50% Peatmoss Kekkila Garden®, 30% Perlita AGROLITA® y 20% Vermiculita AGROLITA® como sustrato. Las fertilizaciones se aplicaron de manera semanal ajustándolas a las necesidades del cultivo de acuerdo con lo sugerido por Gil *et al.* (2003) con un riego diario. Dos meses antes de realizar las aplicaciones de hongos entomopatógenos, se liberaron 50 adultos de *B. cockerelli* por bloque, dando un total de 200 insectos. Para realizar las aplicaciones se utilizó una mochila aspersora manual con capacidad de 20 L con una boquilla de cono y una presión de trabajo entre 6 y 8.7 psi; se aplicó una concentración de 1×10^8 conidias mL^{-1} con INEX-A al 0.2% para los hongos entomopatógenos, en el caso del Imidacloprid se aplicaron 0.2 L ha^{-1} de manera sistémica, mas la solución de agua con INEX-A al 0.2%. Finalmente al testigo se le aplicó una solución de agua con INEX-A al 0.2%; se realizaron 3 aplicaciones, dejando dos días entre cada una de ella.

3.11 Muestreo de Insectos

En ambos ensayos sobre chile y tomate, se determinó tomar 5 hojas completamente al azar de cada planta a los cuatro días después de la última aplicación, éstas se colocaron en una bolsa de plástico con papel húmedo; a cada hoja se le colocó una torunda de algodón rodeando el peciolo con cinta adhesiva de

celofán para retrasar la desecación. Se contaron los insectos vivos y muertos, y se mantuvieron durante ocho días más para asegurar que los insectos muertos hubieran sido por micosis, para ello se observó esporulación de los hongos sobre el insecto. Los resultados se analizaron estadísticamente realizando un análisis de varianza (ANAVA), y se realizó comparación de medias con la prueba de Tukey a un nivel de probabilidad de error $\alpha = 0.05$.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Condiciones Nutrimientales

Al medir el crecimiento de micelio de las cepas en cada medio, se observaron preferencias similares para todas las cepas, siendo el medio en donde más rápidamente creció el micelio PDA + 5% de levadura. Sin embargo, las diferencias se observaron en los días que tardaron para ocupar toda la caja, siendo la cepa MA28 la de crecimiento más rápido, así como la primera en esporular (Cuadro 1).

Cuadro 1. Efecto de los medios de cultivo sobre el diámetro de crecimiento micelial (cm) de hongos entomopatógenos.

Medios	Cepas			
	BB09	BB42	MA25	MA28
PDA	2.46 ^b	2.85 ^c	4.08 ^b	2.72 ^c
PDA+L [†]	4.77 ^a	5.07 ^a	4.81 ^a	5.1 ^a
PDA+S ^{† †}	2.35 ^b	2.7 ^c	4.66 ^a	3.31 ^b
Agar-Agua	4.97 ^a	3.97 ^b	3.71 ^b	3.11 ^b

Letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

[†] PDA+5% de levadura

^{† †} PDA+5% de sacarosa

Al realizar las pruebas de viabilidad en algunos casos se encontraron diferencias significativas en la disminución de la viabilidad de las conidias dependiendo del medio; la única cepa que no presentó diferencias significativas, fue la cepa BB42, en la cual, independientemente del medio tuvo porcentajes de viabilidad arriba del 97%. En el resto de las cepas, no hubo ninguna tendencia similar respecto a los porcentajes de viabilidad obtenidos. Para el caso de la cepa BB09, los medios con mayores porcentajes de conidias viables fueron en PDA y en Agar - Agua; para MA25 el medio donde se obtuvo el mejor porcentaje de viabilidad fue en Agar - Agua. Finalmente, para MA28 el único medio donde el porcentaje de viabilidad fue muy bajo fue en PDA (Cuadro 2).

Al realizar el conteo de esporas para cada medio, se encontró cierta tendencia dependiente del medio, sobresaliendo en cuanto al número de esporas producidas,

el medio PDA+L, lo que muestra una preferencia de estas cepas por medios con un alto contenido de componentes nitrogenados. La única excepción fue la cepa BB09, que presentó mayor esporulación en el medio PDA y menor en PDA+L. Para el resto de las cepas, el medio en el que se generaron menor cantidad de conidias, fue en Agar – Agua, carente de nutrientes, que propicia un crecimiento de micelio raquíutico debido a la extrema condición de estrés nutrimental (Cuadro 3).

Cuadro 2. Efecto de los medios de cultivo sobre el porcentaje de viabilidad de las conidias de hongos entomopatógenos.

Medios	Cepas			
	BB09	BB42	MA25	MA28
PDA	96.64 ^a	99.04 ^a	91.49 ^b	71.18 ^b
PDA+L [†]	70 ^c	97.43 ^a	91.23 ^b	94.41 ^a
PDA+S ^{† †}	83 ^b	98.06 ^a	89.59 ^b	95.81 ^a
Agar – Agua	97.64 ^a	97.02 ^a	95.89 ^a	96.15 ^a

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

[†] PDA+5% de levadura

^{† †} PDA+5% de sacarosa

Cuadro 3. Efecto de los medios de cultivo sobre la producción de esporas de hongos entomopatógenos.

Medios	Cepas			
	BB09	BB42	MA25	MA28
PDA	3.44X10 ^{6a}	4.3X10 ^{6b}	3.9X10 ^{6b}	2.6X10 ^{6b}
PDA+L [†]	1.2X10 ^{4b}	2.9X10 ^{7a}	2.9X10 ^{7a}	4.9X10 ^{7a}
PDA+S ^{† †}	3.9X10 ^{5b}	4.4X10 ^{6b}	1.8X10 ^{6c}	1.5X10 ^{6b}
Agar – Agua	5.09X10 ^{5b}	7.0X10 ^{5c}	3.8X10 ^{5c}	8.2X10 ^{5b}

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

[†] PDA+5% de levadura

^{† †} PDA+5% de sacarosa

4.2 Evaluación del Crecimiento de las Cepas Bajo Diferentes Temperaturas

Al evaluar el crecimiento radial, la temperatura más adecuada para las cuatro cepas resultó ser 25°C, en dicha temperatura todas las cepas lograron un crecimiento mayor a 4 cm y alcanzaron un mayor tamaño en comparación con el resto de las otras temperaturas. Ninguna de las cepas se comportó de manera

similar en las otras temperaturas, ya que a 20°C, la cepa que alcanzó el mayor tamaño fue la MA28 y a 30°C la cepa MA25, por lo que al menos en este trabajo se puede observar que las cepas correspondientes a *M. anisopliae* poseen un rango de temperatura de crecimiento mayor a las de *B. bassiana* (Cuadro 4). Se observó además un claro efecto de la temperatura sobre el desarrollo de estas cepas, teniendo el mayor efecto la temperatura de 30°C sobre la cepa BB09, ya que disminuyó su desarrollo alrededor de un 50%, al comparar su crecimiento con el que se tuvo a 25°C.

Al contrastar la capacidad de esporulación a diferentes temperaturas, la cepa BB42 generó la mayor cantidad de esporas a una temperatura de 30°C (2.0×10^8 conidias mL⁻¹), y se encontró dentro del mismo grupo estadístico que la cepa MA28 a 25°C (1.1×10^8 y 1.4×10^8 , respectivamente), las cuales generaron la mayor cantidad de esporas a dicha temperatura. Para la cepa MA25 la temperatura más adecuada para producción de esporas fue la de 25°C, seguida de 30°C, la temperatura donde generó menor cantidad de esporas fue la de 20°C. En el caso de la cepa MA28 la cantidad de esporas generadas en orden descendiente dependiendo de la temperatura, fue a 25°C, 30°C y 20°C. En el caso de las cepas de *B. bassiana* la producción de esporas dependiendo de la temperatura fue similar, ya que a 30°C generaron la mayor cantidad de conidias, seguida de 25°C, y finalmente la temperatura donde se generaron la menor cantidad de esporas fue a 20°C (Cuadro 4).

La germinación de conidias fue claramente afectada por la temperatura, en el caso de la cepa MA25 la temperatura más adecuada para la germinación fue a 25°C, seguida de 30°C, teniendo una disminución de casi 15% de germinación a 20°C. Al evaluar dicha variable para la cepa MA28, tuvo un 100% de germinación a 25°C, a 20°C la germinación disminuyó 3%; sin embargo, al evaluarla a 30°C, la germinación disminuyó 17%, por lo que se puede inferir que a temperaturas mayores o cercanas a 30°C, esta cepa podría llegar a perder casi 20% de efectividad en sus aplicaciones en campo considerando que la germinación es un factor determinante para el éxito en las aplicaciones de estos microorganismos. Para la cepa BB42, si bien, la

temperatura afectó la germinación, no disminuyó en más del 7% su capacidad de desarrollo, resultando la temperatura más adecuada a 25°C, seguida de 20°C y finalmente 30°C. Por último, la cepa BB09, al igual que las demás cepas tuvo la mayor germinación a 25°C, a 20°C su germinación disminuyó 12%, y finalmente a 30°C un 3% más (Cuadro4).

Cuadro 4. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento radial, esporulación y germinación de cuatro cepas de hongos entomopatógenos.

CEPA	Temperatura		
	20°C	25°C	30°C
Crecimiento radial (cm)			
MA25	3.1 ^c	5.0 ^a	3.9 ^a
MA28	4.3 ^a	5.0 ^a	3.6 ^a
BB42	3.3 ^c	4.1 ^c	3.06 ^b
BB09	3.63 ^b	4.5 ^b	2.98 ^b
Esporulación (conidias mL⁻¹)			
MA25	1.45x10 ^{7b}	4.00x10 ^{7b}	2.50x10 ^{7bc}
MA28	5.46x10 ^{7a}	1.40x10 ^{8a}	1.50x10 ^{7c}
BB42	1.68x10 ^{7b}	1.10x10 ^{8a}	2.00x10 ^{8a}
BB09	1.45x10 ^{7b}	4.66x10 ^{7b}	7.83x10 ^{7b}
Germinación de conidias (%)			
MA25	54.91 ^c	69.75 ^b	59.29 ^b
MA28	97.08 ^a	100 ^a	82.81 ^{ab}
BB42	93.95 ^{ab}	97.94 ^a	91.39 ^a
BB09	81.37 ^b	93.75 ^a	84.82 ^a

Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

El efecto de la temperatura ha sido descrito para diversas especies de hongos entomopatógenos, y este implica disminuciones en el crecimiento, esporulación y germinación de conidias. Si bien, algunos autores han determinado las temperaturas óptimas para *B. bassiana* y *M. anisopliae*, no todas las cepas se comportan de manera similar, y su capacidad de termotolerancia está generalmente asociada a su origen geográfico (Ying y Feng, 2004; Li y Feng, 2009). Las cepas nativas de este

trabajo provinieron de zonas con diferentes condiciones climáticas, en el caso de MA25 la temperatura promedio oscila entre los 10 y 20°C, y para la cepa BB42, entre los 19 y 30°C (INEGI, 2013), temperaturas abarcadas en este trabajo, y en donde podemos observar que la cepa BB42, en términos generales es menos sensible a los cambios de temperatura que el resto, ya que si bien disminuyó su crecimiento, esporulación y germinación, los cambios no resultaron ser tan sensibles como es el caso de las otras cepas. Nuestro trabajo coincide con lo que otros autores mencionan, en donde se menciona que la temperatura óptima para el desarrollo, esporulación y germinación para ambas especies es 25°C (James *et al.*, 1998; Godoy *et al.*, 2007 y Kotwalet *et al.*, 2012); sin embargo, Nussenbaum *et al.* (2013), describe que *B. bassiana* tiene una temperatura óptima de crecimiento y germinación a 27°C, además de crecer más rápido a temperaturas más bajas, a diferencia de *M. anisopliae* que crece más rápido a temperaturas más altas. Otros autores mencionan diferentes resultados a los obtenidos en este trabajo, en donde *M. anisopliae* tiene temperaturas óptimas de crecimiento, esporulación y germinación entre los 30° y 35°C (Taylor y Khan, 2010; Hsia *et al.*, 2014). Es importante evaluar la tolerancia a temperaturas más altas en el momento de elegir un aislado para el desarrollo como un agente de control microbiano, ya que en condiciones de campo, los hongos que tienen las tasas de germinación más rápidas, poseen teóricamente una ventaja y pueden ser micoinsecticidas más eficaces, ya que son capaces de infectar al huésped en un periodo más breve, una vez que existen condiciones ambientales favorables, aunque esto no asegura la infección y por lo tanto la efectividad, ya que existen otros factores que pueden influir en el comportamiento de estos microorganismos (Yeo *et al.*, 2003).

4.3 Producción Masiva de Hongos Entomopatógenos en Sustratos Alternativos

Al evaluar los sustratos para la producción masiva, el arroz fue el único sustrato que fue colonizado en su totalidad por todas las cepas evaluadas obteniéndose rendimientos mayores a 1×10^9 conidias por gramo de soporte, exceptuando la cepa BB09. Las cepas más productivas fueron BB42 y MA28 cepas nativa y comercial respectivamente.

Tanto en el bagazo de caña como en el de uva el crecimiento fue muy escaso, y se concentró en la zona donde se realizó la inoculación, en ambos sustratos las diferentes cepas no ocuparon más del 70% del soporte. En el caso del bagazo de uva sólo las cepas de *M. anisopliae* se desarrollaron en el mismo; a pesar de que los resultados en el cuadro resaltan una buena producción de conidias, no es equivalente a la producida en el arroz, ya que como se mencionó anteriormente se concentró en una zona, de donde se tomó la muestra para realizar el conteo de esporas. En el caso del bagazo de caña, sólo crecieron las cepas BB42 y MA25 y de igual manera que en el bagazo de uva, el crecimiento fue escaso y se concentró en el punto cercano a la inoculación, probablemente debido a que allí quedaron remanentes del cultivo líquido inicial (Cuadro 5).

Cuadro 5. Producción de esporas de cepas de hongos entomopatógenos en diferentes sustratos vegetales.

Cepas	Sustrato vegetal		
	Arroz	Bagazo de uva	Bagazo de caña
BB42	2.6x10 ^{9a}	0	2.5x10 ⁸
BB09	8.5x10 ^{8b}	0	0
MA25	1.0x10 ^{9b}	5.7x10 ⁷	5.6x10 ⁷
MA28	2.2x10 ^{9a}	7.3x10 ⁷	0

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

4.4 Ensayos de Adhesión de Conidas de Hongos Entomopatógenos sobre Ninfas de *B. cockerelli*

Se visualizó cierta diferencia en la cantidad de conidias que se quedaron agregadas al cuerpo de las ninfas de *B. cockerelli* dependiendo de la especie de hongo entomopatógeno; además se observó que el porcentaje de germinación de las conidias que quedaron sobre el cuerpo del insecto fue bajo. Las conidias de las cepas MA25 y MA28 se encontraron en mayor cantidad en patas y la unión patas-cuerpo; para la cepa BB42 se encontraron distribuidas por todo el cuerpo de las ninfas y para BB09 en patas y vestigios alares.

Los resultados de este trabajo coinciden con lo reportado previamente por otros autores, en donde se muestra que los medios de cultivo tienen inferencia tanto en el crecimiento de micelio, como en la cantidad de esporas generadas, comportándose muy diferente dependiendo de la especie y cepa de hongo entomopatógeno. Algunos autores reportan que el medio de crecimiento para las especies utilizadas en este trabajo, es Agar Dextrosa Sabouraud; sin embargo, en nuestro trabajo un medio enriquecido con levadura, presenta resultados similares, por lo que la utilización de este medio, al carecer de los otros materiales, puede ser una alternativa para la producción masiva en medio sólido para estas especies; añadiendo a éstas ventajas que el crecimiento y la esporulación sean más rápidas en este medio de cultivo (Soundarapandian y Chandra, 2007; Senthamizhlselvan *et al.*, 2010). En cuanto a la producción masiva estos datos coinciden con los reportados por Sahayaray Namasivayam, (2008), en donde se observó que el sustrato donde se obtienen mayor cantidad de conidias fue en arroz.

4.5 Ensayos en Invernadero en Cultivo de Chile

4.5.1 Viabilidad

Con la finalidad de ajustar la concentración de las soluciones de los hongos entomopatógenos a evaluar, se realizaron pruebas de viabilidad con cada cepa a las 17 horas. La germinación de las conidias de *M. anisopliae* y *B. bassiana* fue de 88 a 100%. Las dos cepas de *M. anisopliae* tuvieron en promedio 90% de viabilidad. La cepa nativa de *B. bassiana* (BB42) tuvo un valor de 88% y la comercial (BB09) un valor de 99% de viabilidad. Los resultados de porcentaje de viabilidad concuerdan con lo citado por Lacey *et al.* (2009) quienes obtuvieron porcentajes que varían de 95 a 99% con cepas de *M. anisopliae* y porcentajes similares a cepas de *B. bassiana*.

4.5.2 Miosis en *Bactericera cockerelli*.

Al revisar las plantas que se mantuvieron en invernadero, no se observó esporulación sobre ninfas de Paratrioza; en contraste, las ninfas a las que se les aplicaron las cepas MA28 y MA25 se doblaban hacia el vientre y se encontraban desecadas; en el caso de las cepas BB09 y BB42 los insectos adquirieron una

tonalidad rosácea. Las ninfas que mostraron esporulación sobre los cadáveres de las ninfas o adultos de *B. cockerelli*, de manera más evidente fueron BB09 y BB42, en el caso de las cepas de *M. anisopliae* a los ocho días de la evaluación se observó una pobre esporulación. El cambio de color del cuerpo del insecto ha sido reportado en otras especies de insectos, como el psílido del eucalipto y la mosquita blanca (Dalet *al.*, 2011 y Wraight *et al.*, 2000).

Este síntoma de infección, es de utilidad cuando se trabaja con estas especies en invernadero, ya que las condiciones no siempre son las adecuadas para observar la esporulación del hongo, y el cambio en la coloración del insecto pudo evidenciar que el entomopatógeno estuvo actuando sobre las ninfas de *B. cockerelli*.

4.5.3 Mortalidad

En cuanto al número de ninfas totales en cada uno de los tratamientos no se encontró diferencia significativa, lo que indicó que la población de *B. cockerelli* dentro del invernadero fue homogénea. En cuanto a la mortalidad de *B. cockerelli*, se encontró diferencia estadística significativa, dependiente de la cepa de hongos entomopatógenos. La mortalidad utilizando hongos entomopatógenos varió de 36 a 47%, obteniéndose ésta última con la cepa BB09, y quedando muy por arriba del tratamiento químico. Se formaron dos grupos, quedando dentro de los mejores para el control de *B. cockerelli*, las cepas BB09, BB42, MA28 y finalmente MA25, la cual se agrupó también con los tratamientos que obtuvieron menor porcentaje de mortalidad, Químico y Testigo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Ninfas vivas, muertas, totales y mortalidad de *B. cockerelli* debido a la aplicación de hongos entomopatógenos.

Tratamiento	Ninfas vivas	Ninfas muertas	Ninfas totales	Mortalidad (%)
Testigo	70.25	3.25	73.50	6.02 ^b
Químico	72.0	5.50	77.50	10.88 ^b
MA25	50.00	23.75	73.75	36.38 ^{ab}
MA28	35.25	27.25	62.5	43.06 ^a
BB09	28.00	27.25	55.25	47.66 ^a
BB42	53.75	45.25	99.00	45.12 ^a

Letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05)

4.6 Ensayos en Invernadero en Cultivo de Tomate

4.6.1 Viabilidad

Con la finalidad de ajustar la concentración de las soluciones de los hongos entomopatógenos a evaluar, se realizaron pruebas de viabilidad con cada cepa a las 17 h. La germinación de las conidias de *M. anisopliae* y *B. bassiana* fue de 85 a 100%. Las dos cepas de *M. anisopliae* tuvieron en promedio 92.5% de viabilidad. La cepa nativa de *B. bassiana* (BB42) tuvo un valor de 90% y la comercial (BB09) un valor de 95% de viabilidad.

4.6.2 Micosis

Al revisar las plantas que se mantuvieron en invernadero, no se observó esporulación sobre ninfas de Paratrioza; en el caso de las cepas BB09 y BB42 los insectos adquirieron una tonalidad rosácea. Al observar las ninfas en laboratorio, las que mostraron esporulación sobre los cadáveres de las ninfas o adultos de *B. cockerelli*, de manera más evidente fueron BB09 y BB42, en el caso de las cepas de *M. anisopliae* a los ocho días de la evaluación se observó micosis sin llegar a la esporulación.

4.6.3 Mortalidad

El evaluar la mortalidad, se formaron cuatro grupos, quedando el control químico como el más eficiente para el manejo de *B. cockerelli*, con un 99.75% de mortalidad, le siguió la cepa BB42, con 82.21% de mortalidad; posteriormente MA28 cepa que alcanzó casi una mortalidad del 50% y en el último grupo quedó MA25, BB09 y el testigo con mortalidades menores al 15% (Figura 1).

Lacey *et al.* (2009) utilizaron cepas de *B. bassiana* y *M. anisopliae* para el control del psílido de la papa en campo utilizando 1×10^8 conidias por mL, obteniendo mortalidades entre el 85 al 95%, un poco más altas que las encontradas aquí, probablemente debido a las concentraciones utilizadas.

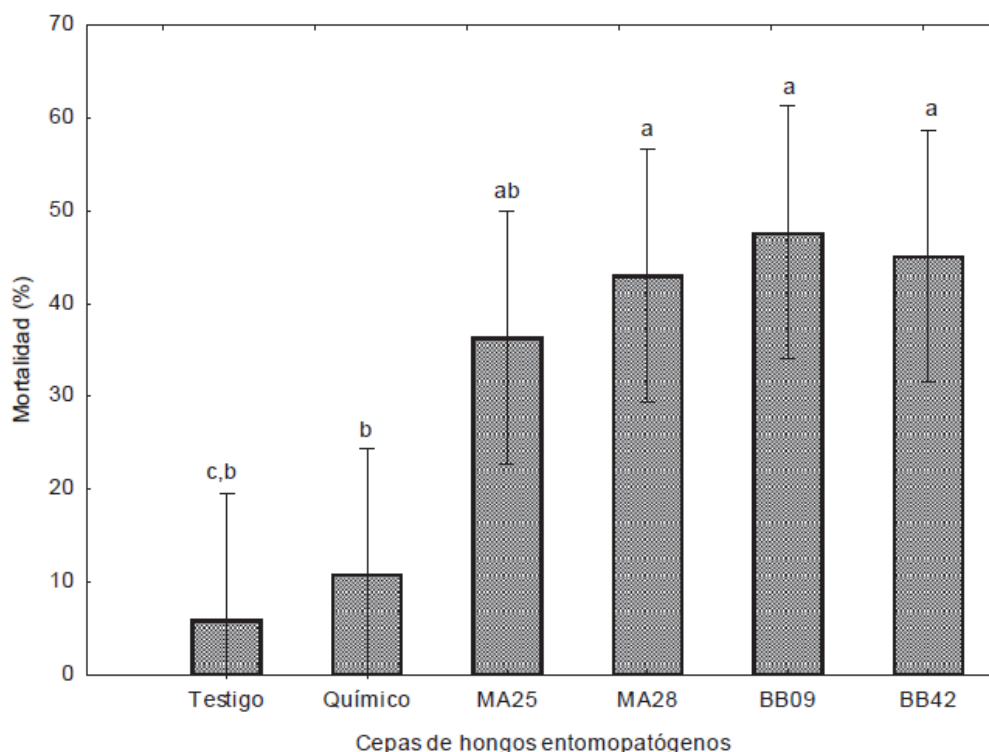


Figura 1. Mortalidad de *B. cockerelli* debido a las aplicaciones de hongos entomopatógenos en plantas de tomate. MA25 y MA28 corresponden a cepas de *M. anisopliae* y BB09 y BB42 a cepas de *B. bassiana*. Letras indican diferencias estadísticas entre los tratamientos (Tukey, 0.05).

Comparando los resultados aquí obtenidos con otros similares, se encontró que existen pocos donde se utilicen hongos entomopatógenos para el manejo de plagas en invernadero y en ninguna ocasión se utilizaron para el manejo del psílido de la papa; sin embargo, los casos exitosos en el manejo de plagas bajo condiciones protegidas, se encuentran descritos en los trabajos de Feng *et al.* (2004) y Wraight *et al.* (2000) contra mosquitas blancas en lechuga y pepino; utilizando cepas de *B. bassiana* y *Paecilomyces fumosoroseus* logrando mortalidades que van del 44% al 90%; no obstante, cabe remarcar que en estos trabajos se utilizaron concentraciones

que van de 1.43×10^{13} a 5×10^{13} conidias por mL; muy por encima de las utilizadas en este trabajo. La utilización de hongos entomopatógenos, no es exclusiva para el manejo de insectos, Chadler, *et al.* (2005), obtuvieron resultados favorecedores para el manejo del ácaro *Tetranychus urticae* en tomate bajo condiciones de invernadero, en donde utilizando una dosis de 1×10^8 conidias por mL de *B. bassiana*, se generó una supresión del 97% de la población. Con este trabajo se puede observar que incluir el uso de hongos entomopatógenos en el manejo de *B. cockerelli* es una táctica adecuada, y quizá incrementar las concentraciones utilizadas brindará un mejor control. Adicionalmente se observó la presencia de parasitoides de ninfas de *B. cockerelli* y no se observaron adultos de los mismos micosados, por lo que se puede deducir que no se vieron afectados por las aplicaciones de hongos entomopatógenos.

5. CONCLUSIONES

El medio de cultivo que resultó ser el más adecuado para el crecimiento y producción de conidias para las cuatro cepas evaluadas en este trabajo bajo condiciones de laboratorio es aquel enriquecido con levadura.

Al evaluar diferentes temperaturas se encontró que el crecimiento para las cepas MA25, MA28, BB42 y BB09 fue superior a 25°C. La mayor cantidad de esporas generadas en el caso de las cepas BB42 y BB09 fue a 30°C, para las cepas MA25 y MA28, hubo mayor esporulación a 25°C. Finalmente, la germinación para todas las cepas alcanzó sus niveles más altos a 25°C.

En el caso de sustratos vegetales, el arroz resultó la mejor opción para la propagación masiva; sin embargo, puede continuarse en la búsqueda de sustratos alternativos.

En las pruebas de adhesión realizadas se observaron ciertas diferencias, en donde las conidias de las cepas MA25 y MA28 se encontraron en mayor cantidad en patas y la unión patas-cuerpo; para la cepa BB42 se encontraron distribuidas por todo el cuerpo de las ninfas y para BB09 en patas y vestigios alares.

Al evaluar las mortalidades en cultivo de chile a una concentración 1×10^7 conidias mL^{-1} las mejores cepas fueron las pertenecientes a *B. bassiana*, alcanzando casi un 50% de mortalidad, quedando por encima del tratamiento químico el cual quedó con una mortalidad del 10%; dichos valores para el tratamiento químico se deben probablemente a la forma de aplicación.

Al evaluar las mortalidades en cultivo de tomate a una concentración de 1×10^8 conidias mL^{-1} se obtuvo un 99.75% de mortalidad con el tratamiento químico, sin embargo, con la cepa BB42 alcanzó un porcentaje superior al 80%. La cepa que

le siguió en valores de mortalidad fue la MA28, la cual alcanzó casi un 50% de mortalidad.

6. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

- Abdullah, N. M. M. 2008. Life history of the Potato Psyllid *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) in controlled environment agriculture in Arizona. African Journal of Agricultural Research 3: 060-067.
- Castilla, N. 1991. El cultivo forzado en España. SECH. En: La Horticultura Española en la CEE. L. Rallo y F. Nuñez (Ed.). Ediciones Horticultura. Reus, España. 284-291.
- Cerna, C. C. L., Aguirre, M., Flores, L., Guervara, J., Landeros, Y., Ochoa, J. 2010. Susceptibility to *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae) to insecticides in the State of Nuevo Leon, Mexico. Resistant Pest Management Newsletter 19: 14-17.
- Chandler, D., Davidson, G. and Jacobson, J. 2005. Laboratory and glasshouse evaluation of entomopathogenic fungi against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae), on tomato, *Lycopersicon esculentum*. Biocontrol Science and Technology 15:1, 37-54.
- Charnley, A. K. 1992. Mechanism of fungal pathogenesis in insects with particular reference to locusts. En: Lomer, C.J., C. Prior Eds.), Biological Control of Locusts and Grasshoppers. Melkshan, UK: CAB International. pp. 190-191.
- Dal, M. H. F. A., C. F. Wilcken, R.S. Christovam, E. P. Prado and M. J. Gimenes. 2011. Effect of formulated entomopathogenic fungi on Red Gum Lerp Psyllid *Glycaspis brimblecombei*. Research Journal of Forestry 5: 99-106.
- De Faria, M., Wraight, S. 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. Crop Protection 20: 767-777.
- EPPO. 2009. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Reporting Service 5 5-8. www.eppo.org. Revisado: 13 julio 2011.
- Feng, M.G., Chen, B. and Ying, H. 2004. Trials of *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* and Imidacloprid for management of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) on greenhouse grown lettuce. Biocontrol Science and Technology 14(6): 531-544.
- Garza, E. 2005. La langosta *Schistocerca gregaria* y su manejo en la Planicie Huasteca. Folleto Técnico No. 12. Campo experimental Ébano. INIFAP. SAGARPA.
- Garzón, T. J. A., Cárdenas, O. G., Bujanos, R., Marín, A., Becerra, A. Velarde, S., Reyes, C., González, M. y Martínez, J. L. 2009. Asociación de Hemiptera:

- Triozidae con la enfermedad “Permanente del tomate” en México. *Agricultura Técnica en México* 35: 61-72.
- Gil, I., Sánchez, F. y Miranda, I. 2003 Producción de jitomate en hidroponía bajo invernadero. Universidad Autónoma Chapingo. México. 90 p.
- Godoy, J. C., Valera, R. E., Guédez, C., Cañizalez, L. M. y Castillo, C. 2007. Determinación de temperatura y humedad óptima para la germinación y esporulación de cinco aislamientos de *Beauveria bassiana*. *Revista Facultad de Agronomía* 24: 415-425.
- Goolsby, J. A., Adamczyk, J., Bextine, B., Lin, D., Munyaneza, J. E., Bester, G. 2007. Development of an IPM program for management of the potato psyllid to reduce incidence of zebra chip disorder in potatoes. *Subtropical Plant Science* 59: 85-94.
- Hansen, A. K., Trumble, J. T., Stouthamer, R., Paine, T. D. 2008. A new huanglongbing species, “*Candidatus Liberibacter psyllaureus*,” found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Applied Environmental Microbiology* 74: 5862–5865.
- Hsia, I. C. C., Islam, M. T., Ibrahim, Y., How T. Y. and Omar, D. 2014. Evaluation of conidial viability of entomopathogenic fungi as influenced by temperature and additive. *International Journal of Agriculture & Biology* 16(1): 146–152.
- INEGI. 2009. Estados Unidos Mexicanos. Censo Agropecuario 2007. VIII Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. Aguascalientes, Ags.
- INEGI. 2013. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. www.inegi.org.mx Revisado el 10 abril 2014.
- IRAC. 2005. Resistance Management for Sustainable Agriculture and Improved Public Health www.irc-online.org. Revisada el 01 de enero 2012.
- James, R. R., Croft, B. A., Shaffer, B. T. and Lighthart, B. 1998. Impact of temperature and humidity on host-pathogen interactions between *Beauveria bassiana* and a Coccinellid. *Environmental Entomology* 27(6): 1,506-1,513.
- Jiménez, J. 2009. Manejo Integral del Cultivo de Tomate en Invernadero. Ed. Ferri Invernaderos y Casas Sombras. México. Primera Edición. 213 pp.
- Kotwal, S., Parate, R. L, Mane, S. S and Deshmukh, V. V. 2012. Influence of nutrition and different physical parameters on growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae*. *International Journal of Science, Environment and Technology* 1(5): 479–484.

- Lacey, L. A., Kaya, H. K. 2000. Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests. Kluwer Academic Publishers, Países Bajos. 911 pp.
- Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H., Vail, P. 2001. Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biological Control* 21: 230-248.
- Lacey, L. A., de la Rosa, F., Horton, D. 2009. Insecticidal activity of entomopathogenic fungi (Hymenozoa) for Potato Psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae): Development of bioassay techniques, effects of fungal species and stage of psyllid. *Biocontrol Science and Technology* 19: 957-970.
- Li, J. and Feng, M. G. 2009. Intraspecific tolerance of *Metarhizium anisopliae* conidia to the upper thermal limits of summer with a description of a quantitative assay system. *Mycological Research* 113: 93-99
- Liefting, L. W., Sutherland, P. W., Ward, L. I., Paice, K. L., Weir, B. S., Clover, G. R. G. 2009. A new 'Candidatus Liberibacter' species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93: 208-214.
- Medina, G., y Covarrubias, J. 2008. Reporte Agrometeorológico. Abril 2008. Red de monitoreo agrometeorológico del estado de Zacatecas. INIFAP. Folleto informativo No. 52. pp 21.
- Monzón, A. 2001. Producción, uso y control de calidad de hongos entomopatógenos en Nicaragua. *Manejo Integral de Plagas (Costa Rica)* 63:95-103.
- Munyanza, J. E., Buchman, J. L., Upton, J. E., Goolsby, J. A., Crosslin, J. M., Bester, G., Miles, G. P., Sengoda, V. G. 2008. Impact of different potato psyllid populations on Zebra Chip disease incidence, severity, and potato yield. *Subtropical Plant Science* 60: 27-37.
- Nussenbaum, A. L., Angulo-Lewylle, M. and Lecuona, R. E. 2013. Germination, radial growth and virulence to boll weevil of entomopathogenic fungi at different temperatures. *World Applied Sciences Journal* 25 (8): 1134-1140.
- Reché, J. 2009. Cultivo de Tomate en Invernadero. Ministerio de Medio Ambiente Rural y Marino. Gobierno de España. 302 pp.
- SAGARPA. 2009. Manejo Integrado de la Paratrypana Comité Estatal de Sanidad Vegetal Del Estado de México www.sagarpa.gob.mx. Revisado el 18 julio 2011.
- Sahayaraj, K. and Namasivayam, S. K. R. 2008. Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. *African Journal of Biotechnology* 7 (12): 1907-1910.

- Servicio Nacional de Sanidad. 2008. Dirección de Protección Fitosanitaria. Apéndice de Manejo Integrado de la broca del café en México (Manual Técnico Operativo de la campaña contra la broca del café).
- Senthamizhlselvan, P, Alice, J., Sujeetha, R. P and Jeyalakshmi, C. 2010. Growth, sporulation and biomass production of native entomopathogenic fungal isolates on a suitable medium. *Journal of Biopesticides* 3(2): 466 – 469.
- SIAP, SAGARPA. 2014. Servicio de Información Agrícola y Pesquera. Reportes estadísticos de producción anual y mensual por cultivo. www.siap.gob.mx. Revisado 1 de septiembre 2014.
- Soundarapandian, P. and Chandra, P. 2007. Mass production of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromyota; Hyphocreales) in the laboratory. *Research Journal of Microbiology* 2 (9): 690- 695.
- Taylor, B.M and Khan, A. 2010. Germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* on *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae). *Pakistan Entomologist* 32 (2): 148-154.
- Téllez, A., Cruz, M., Mercado, Y., Assaf, A., Arana-Cuenca, A. 2009. Mecanismos de acción y respuesta en la relación de hongos entomopatógenos e insectos. *Revista Mexicana de Micología* 30: 73-80.
- UC IPM. 2011. Tomato. How to manage pests. www.ipm.ucdavis.edu. Revisado el 14 marzo de 2012.
- UC IPM . 2010. Tomato Psyllid www.ipm.ucdavis.edu. Revisado: 5 Julio 2010.
- Yeo, H., Pell, J. K., Alderson, P. G., Clarke, S. J. and Pye, B. J. 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. *Pest Management Science* 59: 156-165.
- Ying, S. H. and M. G. Feng. 2004. Relationship between thermotolerance and hydrophobin-like proteins in aerial conidia of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* as fungal biocontrol agents. *Journal of Applied Microbiology* 97: 323–331.
- Wraight, S., Carruthers, R. I., Jaronski, S. T., Bradley, C. A., Garza, C. J. and Galaini-Wraight, S. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the Silverleaf Whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control* 17: 203-217.

7. APÉNDICE

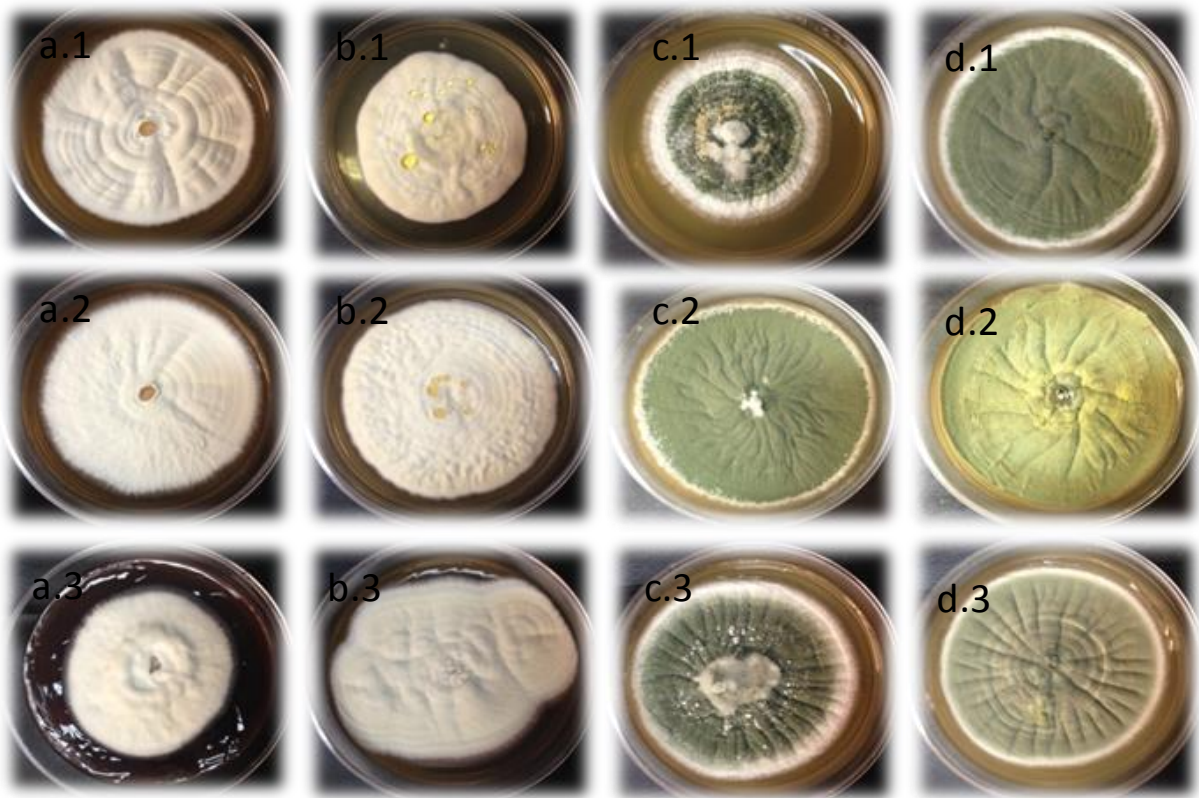


Figura 2. Crecimiento y esporulación de cepas de hongos entomopatógenos bajo diferentes temperaturas. a.1, a.2, a.3) Cepa BB09 a 20°, 25 y 30°C respectivamente. b.1, b.2, b.3) Cepa BB42. c.1, c.2, c.3) Cepa MA25. d.1, d.2, d.3) Cepa MA28.

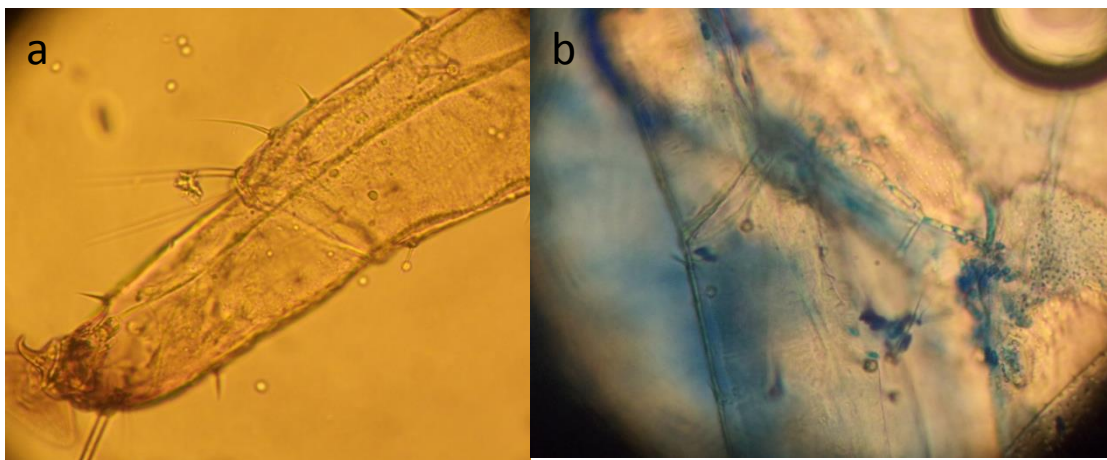


Figura 3. Adhesión de conidias a ninfas de *B. cockerelli*. a) Las conidias de la cepa BB09 se encontraron en su mayoría en las patas. B) Hifa de MA28 creciendo sobre pata de ninfa de *B. cockerelli*.

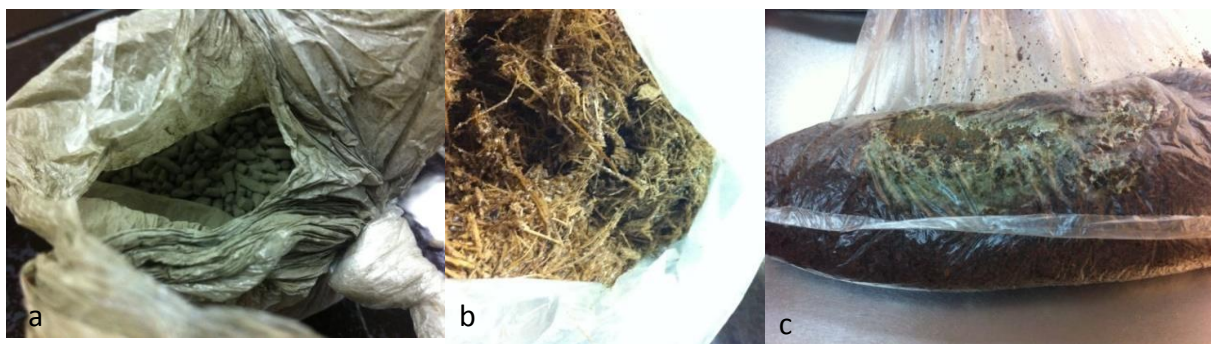


Figura 4. Crecimiento de hongos entomopatógenos sobre diferentes sustratos. a) *M. anisopliae* sobre arroz, observándose una gran esporulación. b) *B. bassiana* sobre bagazo de caña en donde la esporulación resultó muy pobre. c) En bagazo de uva el crecimiento de *M. anisopliae* se concentró en la zona donde se realizó la inoculación.

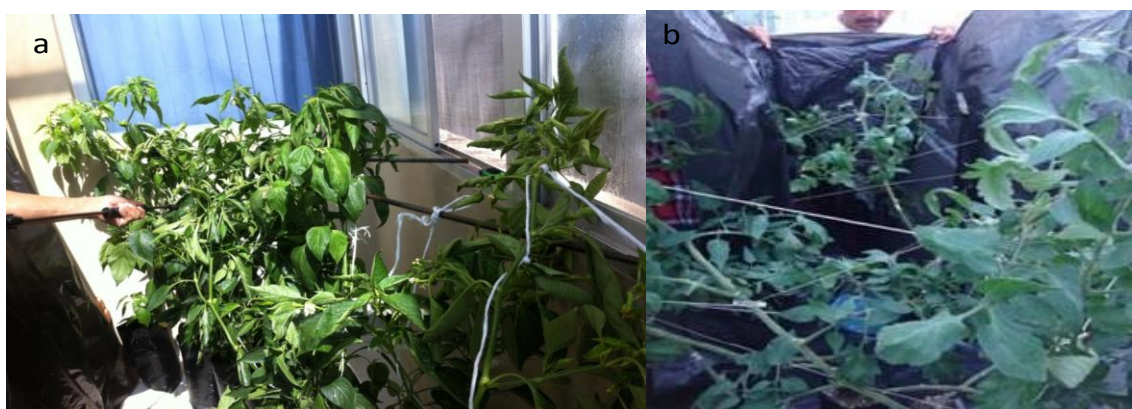


Figura 5. Aplicación de hongos entomopatógenos sobre diferentes cultivos bajo condiciones de invernadero. a) Aplicaciones sobre chile. b) Aplicaciones de sobre tomate.



Figura 6. Ninfas y adultos de *B. cockerelli* mostrando signos de infección por hongos entomopatógenos en cultivo de chile. a) Aplicación de la cepa BB42, cepa que exhibe una profusa esporulación bajo condiciones de laboratorio, sobre los cadáveres de *B. cockerelli*. b) Ninfas con pobre esporulación, aún en laboratorio, como resultado de la aplicación de MA28. c) Adulto que evidencia la esporulación de *B. bassiana*. d) Las ninfas a las que se les aplicó *B. bassiana* mostraron cambios en la coloración bajo condiciones de invernadero.



Figura 7. Hojas muestreadas durante la aplicación de hongos entomopatógenos en cultivo de tomate. a) Hojas recién cortadas llevadas al laboratorio. b) Hojas a las que se les colocaron bolsas con la finalidad de aumentar la humedad relativa y evidenciar la micosis causada por las aplicaciones.

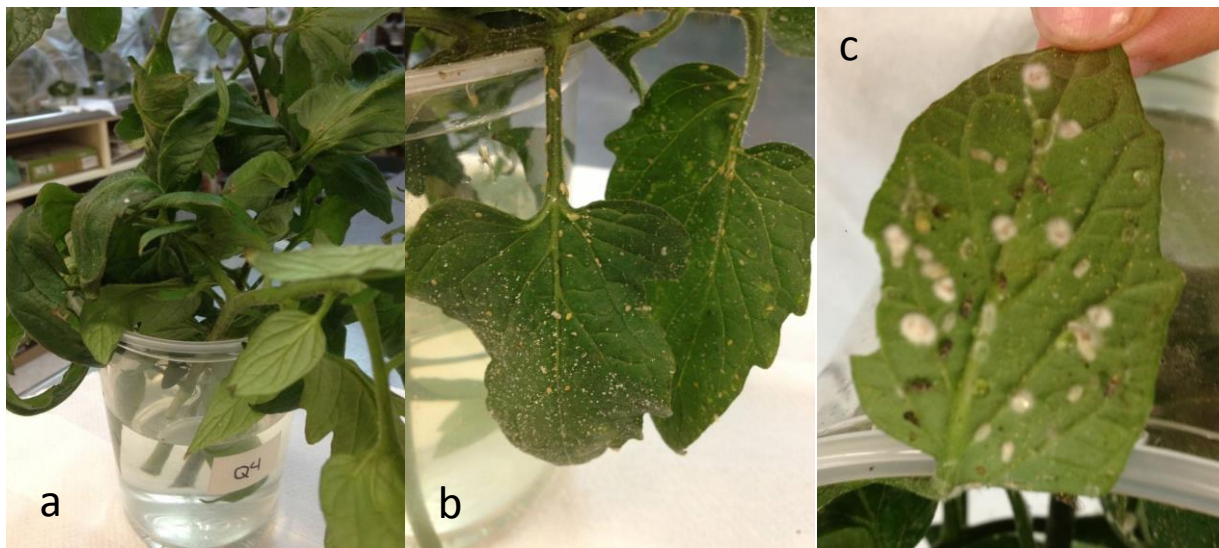


Figura 8. Ninfas y adultos de *B. cockerelli* mostrando signos de infección por hongos entomopatógenos en cultivo de tomate bajo condiciones de laboratorio. a) Se observa la eficiencia del tratamiento químico al no encontrar ninguna ninfa o adulto de *B. cockerelli*. b) Tratamiento testigo, ninguna ninfa ni adulto presenta signos de micosis y existen en gran cantidad. c) Ninfas y adultos con profusa esporulación resultado de las aplicaciones de BB42.